

PATENT APPLICATION

published according to § 31 of Law No. 527/1990 Sb.

(21) Document number

2000 – 2681

(19)
CZECH
REPUBLIC

(22) Filed: **07.21.2000**

(40) Date of publication of application: **03.13.2002**
(Gazette No. 3/2002)

(13) Type of document: **A3**

(51) Int. Cl.⁷:

C 07 K 5/12

//(A 61 K 38/12, A 61 P 35/00)

OFFICE
OF INDUSTRIAL
PROPERTY

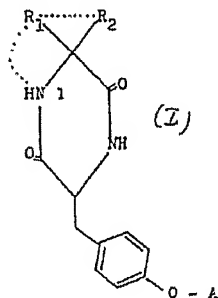
(71) Applicant
KASAFIREK, Evzen Ing. CSc., Prague, CZECH REPUBLIC;
FRIC Piemysl Prof. MUDr. Dr.Sc., Prague, CZECH REPUBLIC;
STURC Antonin Ing., Prague, CZECH REPUBLIC;

(72) Inventors:
Kasfirek, Evzen Ing., CSc. Prague, CZECH REPUBLIC;
Fric Piemysl Prof. MUDr. Sr Sc., Prague, CZECH REPUBLIC;
Sturc Antonin Ing., Prague, CZECH REPUBLIC;

(54) Title of the invention:
Cyclic tyrosine dipeptides

(57) Summary

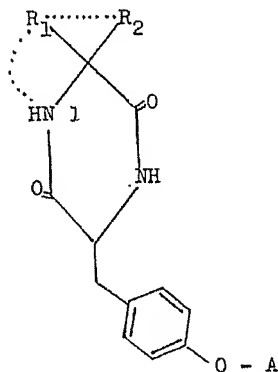
Cyclic tyrosine dipeptides of general formula I represent compounds, in which the phenolic group of tyrosine is esterified with butyric acid. This is a protracted type of drug, in which both the carrier 2,5-dioxopiperazine derivative and the fatty acid in a phenolic ester bond (for example, butyric acid) have a therapeutic effect. The cited compounds can be used in the production of pharmaceutical preparations in solid or liquid forms of administration, intended for inhibition and/or treatment of malignant cell proliferation and/or stimulation of specific proteosynthesis and cell differentiation.



Cyclic tyrosine dipeptides

Field

The invention concerns cyclic tyrosine dipeptides of general formula



where R_1 and R_2 denote straight or branched C_1 to C_7 alkyls or joined by a chemical bond, in which one of these substituents or both can denote a hydrogen atom, R_2 denotes phenylmethyl, 4-hydroxyphenylmethyl, phenyl, 4-hydroxyphenyl, carboxymethyl, 2-carboxyethyl, ϵ -aminobutyl or methylthioethylene, if R_2 is a hydrogen atom, R_1 can form a trimethylene or methylenethiomethylene chain with a nitrogen atom in position 1, A denotes a C_2 to C_7 alkanecarboxylic acid residue.

These new compounds are suitable for inhibition of cell proliferation and/or for stimulation of specific proteosynthesis.

Prior Art

Butyric acid or its salts have interesting biological properties: they influence morphology, growth rate and gene expression in mammalian cells [Life Sci. 27, 1351-1358 (1980)]. A positive effect was also shown in the immune system but an antiviral effect and inhibition of bacterial growth in 14 strains were also found (Life Sci. 63, 1739-1760 /1980/).

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 2681

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 21.07.2000

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 13.03.2002
(Věstník č. 3/2002)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. C1 :

C 07 K 5/12

//(A 61 K 38/12, A 61 P 35/00)

(71) Přihlašovatel:

KASAFÍREK Evžen Ing. CSc., Praha, CZ;
FRIČ Přemysl Prof. MUDr. DrSc., Praha, CZ;
ŠTURC Antonín Ing., Praha, CZ;

(72) Původce:

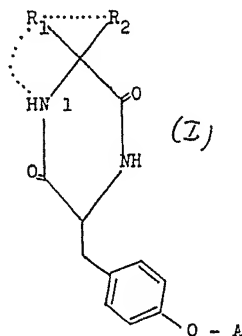
Kasafírek Evžen Ing. CSc., Praha, CZ;
Frič Přemysl Prof. MUDr. DrSc., Praha, CZ;
Štunc Antonín Ing., Praha, CZ;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Cyklické tyrosinové dipeptidy

(57) Anotace:

Cyklické tyrosinové dipeptidy obecného vzorce I představují sloučeniny, kde fenolická skupina tyrosinu je esterifikována kyselinou máselnou. Jde tedy o protražovaný typ léčiva, ve kterém se terapeuticky uplatňuje jak nosič 2,5-dioxopiperazinový derivát, tak i esterově fenolicky vázaná mastná kyselina, např. kyselina máselná. Uváděné sloučeniny lze použít k výrobě farmaceutických přípravků v pevných nebo tekutých dávkovacích formách, určených k inhibici a/nebo léčení maligní proliferace buněk a/nebo stimulaci specifické proteosyntézy a diferenciaci buněk.

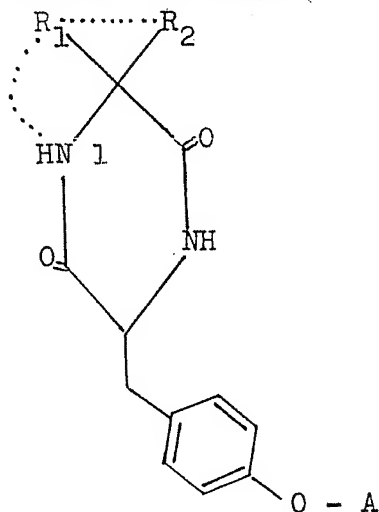


PV 2000 - 2681

Cyklické tyrosinové dipeptidy

Oblast techniky

Vynález se týká cyklických tyrosinových dipeptidů obecného vzorce



kde R_1 a R_2 značí přímé nebo rozvětvené alkyly C_1 až C_7 , popř. spojené chemickou vazbou, přičemž jeden z těchto substituentů, popř. oba mohou značit atom vodíku, R_2 značí fenylmetyl, 4-hydroxyfenylmetyl, fenyl, 4-hydroxyfenyl, karboxymetyl, 2-karboxyetyl, ϵ -aminobutyl anebo metylthioetylen, je-li R_2 atom vodíku, může R_1 tvořit trimetylenový, popř. metylenthioetylenový řetězec s atomem dusíku v poloze 1, A značí zbytek alkankarboxylové kyseliny C_2 až C_7 .

Tyto nové sloučeniny jsou vhodné k inhibici buněčné proliferace a/nebo ke stimulaci specifické proteosyntézy.

Dosavadní stav techniky

Kyselina máselná anebo její sole mají zajímavé biologické vlastnosti: ovlivňují morfologii, rychlost růstu a genovou expresi u ssavčích buněk (Life Sci. 27, 1351-1358 /1980/). Pozitivní vliv byl prokázán i u imunitního systému, ale byl i zjištěn také protivirový účinek a inhibice bakteriálního růstu u

14 různých kmenů (Life Sci. 63, 1739-1760 /1980/).

Použití samotné kyseliny máselné anebo jejích solí má velké omezení pro její nepříjemný zápach a vysoký clearance.

Proto jistým pokrokem byly sloučeniny s kyselinou máselnou kovalentně vázanou (esterovou vazbou) na různé cukry (manosa, glukosa) (Eur. J. Med. Chem. 24, 471-474 /1989/ anebo jen na samotný o-nitrobenzylalkohol (Int. J. Cancer 45, 744-751 /1990/). Nejúspěšnějším derivátem z této skupiny je pivaloyloxymetyl butyrát (PivanexTM). Zcela nesporným pokrokem jsou deriváty tyrosinu, jehož fenolická skupina je esterifikována kyselinou máselnou (PV-2000 - 1654; 05.05.2000); esterolýzou (ubikvitní esterázou) je in situ uvolněna kyselina máselná. Toto překvapivé zjištění bylo prokázáno u sloučenin typu N-acyl-O-butyryltyrosin-etylésterů, původně připravených jako enzymatické substráty. Chymotrypsin tento typ sloučenin neštěpil; po inkubaci s homogenáty pankreatu anebo homogenátem tenkého střeva, došlo k pronikavému štěpení etylesterové vazby v důsledku esterolýzy butyrátu (Acta Universitatis Carolinae - Enzymology and its clinical use - Part III, 139-143 /1975/), obdobně se choval derivát N-acetyl-O-butyryl-3-nitrotyrosin-etyléster; chymotrypsin štěpí C-tyrosinovou vazbu (esterovou anebo amidovou) pouze tehdy, je-li fenolická skupina tyrosinu volná, tj. nesubstituovaná.

Podstata vynálezu

Další pokrok ve zmíněné oblasti představují cyklické tyrosinové dipeptidy uvedeného obecného vzorce, v němž obecné substituenty mají stejný význam jako výše.

Jsou to sloučeniny, kde fenolická skupina tyrosinu je esterifikována kyselinou máselnou. Kombinací 2,5-dioxopiperazinové struktury se zbytkem tyrosinu, který slouží jako nosič esterově vázané kyseliny máselné se získají sloučeniny, ve kterých se biologicky, kromě samotné kyseliny máselné uplatní i tzv. nosič, tj. 2,5-dioxopiperazinový skelet. Neboť jak bylo zjištěno, soubor cyklických dipeptidů, tj. derivátů 2,5-dioxopiperazinu s aromatickými aminokyselinami (ale i prolinem), má podobné biologické účinky jako samotná kyselina máselná, tj. indukci diferenciaci neoplastických buněk a stimulaci jejich regenerace (J. Pharm. Pharmacol. 52, 75-82 /2000/).

Protože tento synergismus obou komponent v léčivu je ojedinelý, tj. kombinace účinného farmaka, ale i tzv. nosiče, představují tyto sloučeniny obecného vzorce podle vynálezu možnost širokého uplatnění v terapii maligního bujení.

Všechny meziprodukty a konečné látky byly připraveny syntézou v roztoku obvyklými metodami užívaných v chemii peptidů. Tyto sloučeniny je možné také připravovat syntézou v pevné fázi, popř. syntézou pomocí enzymů.

Vynález cyklických tyrosinových dipeptidů je blíže ilustrován, ale nijak omezen, v následujících příkladech provedení.

Použité zkratky a symboly mají následující význam:

Boc = tert.butyloxykarbonyl

Z = benzyloxykarbonyl

Btr = butyryl

Bzl = benzyl

DMFA = dimetylformamid

Glu = kyselina glutámová

Lys = lysin

Pro = prolin

Val = valin

Tyr = tyrosin

Příklady provedení

Příklad 1

Cyklo(Valyl-O-butyryltyrosyl)

K roztoku 265 mg cyklo(Val-Tyr) (1 mmol) v 5 ml pyridinu ^{přidán} byl při teplotě místnosti 0,2 ml anhydridu kyseliny máselné. Po 1 h míchání při teplotě místnosti byl roztok odpařen a nekrystalický odparek byl rozpuštěn v octanu etylnatém a postupně vytřepán vodou, 5% hydrogenuhlíčitanem sodným, vodou a odpařen. Krystalizací z 2-propanolu a vody bylo získáno 170 mg (42 % hmot.) produktu o t.t. 166-169 °C.

Příklad 2

Cyklo(Prolyl-O-butyryltyrosyl)

Byl připraven obdobným způsobem jako valinový derivát uvedený v příkladě 1. ve výtěžku 51 % hmot. a t.t. 155-156 °C.

Příklad 3

Cyklo(α -Glutamyl-O-butyryltyrosyl)

Boc-Glu(OBzl-Tyr-OMe

K roztoku 17 g Boc-Glu(OBzl) (50 mmolů) v 50 ml DMFA bylo přidáno 7 ml N-etylpiperidinu, reakční roztok byl ochlazen na -5 °C a za míchání bylo přidáno 5 ml chlormravenčanu etylnatého; po 8 min míchání (-5 °C) byl přidán Tyr-OMe v 30 ml DMFA uvolněný z 11,6 g (50 mmol) odpovídajícího hydrochloridu. Po 2 h míchání za teploty místnosti byl reakční roztok odpařen, odparek byl rozpuštěn v octanu etylnatém a postupně byl vytřepán 1% kyselinou citronovou, vodou, 5% hydrogenuhlíčitanem sodným, vodou a organická fáze byla odpařena a azeotropicky vysušena toluenem. Bylo získáno 17,5 g (68 % hmot.) nekrystalické látky.

Cyklo(α -Glu(OBzl)-Tyr)

K roztoku 5,2 g Boc-Glu(OBzl)-Tyr-OMe (10 mmolů) ve 20 ml ledové kyseliny octové bylo za teploty místnosti přidáno 33 ml

0,9M HCl v kyselině octové. Po 2 h míchání za teploty místnosti byl reakční roztok odpařen, odparek byl rozpuštěn v metanolu a deionizován na slabě bazickém anexu (L 150). Spojené metanolické eluáty byly odpařeny a azeotropicky vysušeny toluenem. Nekrystalický odparek byl rozpuštěn ve 20 ml octanu etylnatém a po přidavku 0,2 ml kyseliny octové byl roztok zahříván 30 min pod zpětným chladičem. Po 3 h (3 °C) byla krystalická látka odfiltrována a krystalizací z kyseliny octové a octanu etylnatého bylo získáno 2,1 g (55 % hmot.) látky o t.t. 190 -193 °C.

Cyklo(α-Glu/OBzl/-Tyr/Btr/)

K roztoku 1,95 g cyklo(α-Glu/OBzl/-Tyr) v 10 ml pyridinu bylo za teploty místnosti přidáno 1 ml anhydridu kyseliny máselné. Po 1 h míchání za teploty místnosti byl roztok odpařen a krystalizací z 2-propanolu a petroleteru bylo získáno 1,8 g látky (80 % hmot.) a t.t. 187-188 °C.

Cyklo(α-Glu-Tyr/Btr/)

1,8 g cyklo(α-Glu/OBzl/-Tyr/Btr/) (4 mmoly) ve 100 ml DMFA byl v přítomnosti 5% Pd/C (0,2 g) hydrogenován za tlaku 2 MPa po dobu 1 h. Potom byla reakční směs za horka zfiltrována a roztok odpařen. Bylo získáno 1,1 g (30 % hmot.) konečného produktu o t.t. 226-230 °C.

Příklad 4

Cyklo(α-lysyl-O-butyryltyrosyl)

Boc-Lys(Z)-Tyr-OMe

Byl připraven anhydridovou metodou z Boc-Lys(Z) obdobným způsobem jako glutamylový dipeptid uvedený v příkladě 3. ve výtěžku 63 % hmot. jako nekystalická látka.

Cyklo(α-Lys/Z/-Tyr/)

Byl připraven acidolýzou a následnou cyklizací z Boc-Lys(Z)-Tyr-OMe jako glutamylový dipeptid uvedený v příkladě 3 ve výtěžku 63 % hmot. a t.t. 238-239 °C.

Cyklo(Δ -Lys/Z/-Tyr/Btr/)

Byl připraven obdobným způsobem z cyklo(Δ -Lys/Z/-Tyr) jako glutamylový dipeptid ve výtěžku 72 % hmot. a t.t. 232-230°C jak je uvedeno v příkladě 3.

Cyklo(Δ -Lys-Tyr/Btr/)

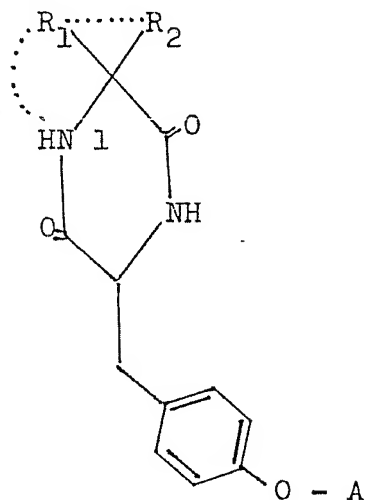
Byl připraven tlakovou hydrogenolýzou z výchozího cyklo-(Δ -Lys/Z/-Tyr/Btr/) jako glutamylový dipeptid uvedený v příkladě 3, s tím rozdílem, že hydrogenolýza byla provedena při 35 °C. Konečný produkt byl získán ve výtěžku 41 % hmot. a t.t. 214-217 °C.

Průmyslová využitelnost

Tento vynález se týká cyklických tyrosinových dipeptidů uvedeného obecného vzorce k výrobě farmaceutických přípravků, určených k inhibici a/nebo léčení maligní proliferace buněk a/nebo stimulace specifické proteosyntézy a diferenciaci buněk, pro perorální nebo rektální aplikaci, v pevných nebo tekutých dávkovacích formách, které lze vyrábět způsoby, běžnými ve farmaceutickém průmyslu a které usnadňují aplikaci, zejména perorální.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

Cyklické tyrosinové dipeptidy obecného vzorce



kde R_1 a R_2 značí přímé nebo rozvětvené alkyly C_1 až C_7 , popř. spojené chemickou vazbou, přičemž jeden z těchto substituentů, popř. oba mohou značit atom vodíku, R_2 značí fenylmetyl, 4-hydroxyfenylmetyl, fenyl, 4-hydroxyfenyl, karboxymetyl, 2-karboxyetyl, ϵ -aminobutyl anebo metylthioetylen, je-li R_2 atom vodíku, může R_1 tvořit trimetylenový, popř. metylthiometylenový řetězec s atomem dusíku v poloze 1, A značí zbytek alkankarboxylové kyseliny C_2 až C_7 .